

30.7.2004

日 本 国 特 許 庁
JAPAN PATENT OFFICE

REC'D 24 SEP 2004

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日
Date of Application: 2003年 7月30日

出 願 番 号
Application Number: 特願2003-282311
[ST. 10/C]: [JP 2003-282311]

出 願 人
Applicant(s): 財団法人理工学振興会

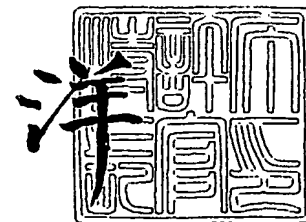
**PRIORITY
DOCUMENT**
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN
COMPLIANCE WITH RULE 17.1 (a) OR (b)

BEST AVAILABLE COPY

2004年 9月 9日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

小 川



出証番号 出証特2004-3081005

【書類名】 特許願
【整理番号】 P03-048
【提出日】 平成15年 7月30日
【あて先】 特許庁長官殿
【国際特許分類】 C12N 15/00
【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県横浜市緑区長津田町 4 2 5 9 東京工業大学内
 【氏名】 丸山 厚
【発明者】
 【住所又は居所】 神奈川県横浜市緑区長津田町 4 2 5 9 東京工業大学内
 【氏名】 佐藤 雄一
【特許出願人】
 【識別番号】 899000013
 【氏名又は名称】 財団法人 理工学振興会
【代理人】
 【識別番号】 100107870
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 野村 健一
【選任した代理人】
 【識別番号】 100098121
 【弁理士】
 【氏名又は名称】 間山 世津子
【手数料の表示】
 【予納台帳番号】 126469
 【納付金額】 21,000円
【提出物件の目録】
 【物件名】 特許請求の範囲 1
 【物件名】 明細書 1
 【物件名】 図面 1
 【物件名】 要約書 1
 【包括委任状番号】 0111949

【書類名】 特許請求の範囲**【請求項 1】**

(a) 検出対象とする核酸分子と相補的な単鎖核酸分子と、(b) (a) の単鎖核酸分子の一部とハイブリダイズする 1 又は 2 の単鎖核酸分子とからなる部分二重鎖型核酸分子であって、当該部分二重鎖型核酸分子の単鎖構造をとっている領域が、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的であることを特徴とする核酸分子。

【請求項 2】

二重鎖構造をとる領域の長さが、10～50 塩基である請求項 1 記載の核酸分子。

【請求項 3】

単鎖構造をとる領域の長さが、1～5 塩基である請求項 1 又は 2 記載の核酸分子。

【請求項 4】

(a) の単鎖核酸分子、(b) の単鎖核酸分子のいずれか一方が、ドナー蛍光色素で標識されており、他方がアクセプター蛍光色素で標識されている請求項 1 乃至 3 のいずれか一項記載の核酸分子。

【請求項 5】

(a) の単鎖核酸分子と (b) の単鎖核酸分子とがリンカーによって繋がられている請求項 1 乃至 4 のいずれか一項記載の核酸分子。

【請求項 6】

リンカーが、核酸である請求項 5 記載の核酸分子。

【請求項 7】

請求項 1 乃至 6 のいずれか一項記載の核酸分子を基板上に固定した核酸チップ。

【請求項 8】

請求項 1 乃至 6 のいずれか一項記載の核酸分子をプローブとして用いる核酸分子の検出方法。

【請求項 9】

請求項 1 乃至 6 のいずれか一項記載の核酸分子をプローブとして用いるミスマッチ配列の検出方法。

【請求項 10】

請求項 1 乃至 6 のいずれか一項記載の核酸分子をプライマーとして用いるミスマッチ配列の検出方法。

【請求項 11】

検出対象とする核酸分子を含むサンプルに、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含まない領域と相補的な第一の検出プローブを加え、次いで、第一の検出プローブと同一の塩基配列を含み、かつ、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的な第二の検出プローブを加え、その後、検出対象とする核酸分子と第二の検出プローブの結合、又は検出対象とする核酸分子と第一の検出プローブとの解離を指標として、核酸分子の検出を行うことを特徴とする核酸分子の検出方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】部分二重鎖型核酸分子

【技術分野】

【0001】

本発明は、プローブやプライマーとして利用可能な核酸分子、及びその用途に関するものである。この核酸分子をプローブとして用いることにより、一塩基変異などの遺伝子配列のわずかな違いを簡易かつ迅速に識別することが可能となる。

【背景技術】

【0002】

従来の技術で、一塩基変異などの微細な塩基配列の違いに対して十分な識別能を持つものは、酵素反応を利用したものに限定される。酵素を用いる解析法は、複雑な系が多く、操作性、コスト、分析時間などに問題がある。

【0003】

一方、酵素を使わない従来技術に、モレキュラービーコン法等があるが、一塩基変異の解析には注意深いプローブ設計が必要となり、ハイスループット化上の問題となる。また、モレキュラービーコンは、プローブ核酸中に識別に関与しない塩基配列を必要とする点で、診断精度上問題になる可能性がある。

【0004】

また、最近、単鎖部分と二重鎖部分とを持つ部分二重鎖型のプローブが報告されている（特許文献1、特許文献2、非特許文献1）。これらの文献には、部分二重鎖型構造のプローブを用いて一塩基変異などを識別することが記載されているが、一塩基変異がプローブ上のどの位置に対応するように設計すればよいかといったことについては言及されていない。

【0005】

【特許文献1】国際公開第02/50308号パンフレット

【特許文献2】国際公開第02/30946号パンフレット

【非特許文献1】Qingge Li, Guoyan Luan, Qiuping Guo and Jixuan Liang Nucleic Acids Research, 2002, Vol.30, No.2

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明は、塩基配列の微細な違いを簡便に識別できるプローブを提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明者は、上記課題を解決するため鋭意検討を重ねた結果、プローブの構造を単鎖部分と二重鎖部分とを持つ部分二重鎖型構造とし、単鎖部分が検出しようとする核酸分子において遺伝的多型の存在が予想される部位などに対応するように、プローブを設計することにより、目的の核酸分子だけを高感度で検出できることを見出し、この知見から本発明を完成するに至った。

【0008】

即ち、本発明は、以下の(1)～(11)を提供するものである。

(1) (a)検出対象とする核酸分子と相補的な単鎖核酸分子と、(b) (a)の単鎖核酸分子の一部とハイブリダイズする1又は2の単鎖核酸分子とからなる部分二重鎖型核酸分子であって、当該部分二重鎖型核酸分子の単鎖構造をとっている領域が、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的であることを特徴とする核酸分子。

(2) 二重鎖構造をとる領域の長さが、10～50塩基である(1)記載の核酸分子。

(3) 単鎖構造をとる領域の長さが、1～5塩基である(1)又は(2)記載の核酸分子。

。

(4) (a)の単鎖核酸分子、(b)の単鎖核酸分子のいずれか一方が、ドナー蛍光色素で標識

されており、他方がアクセプター蛍光色素で標識されている(1)乃至(3)のいずれか記載の核酸分子。

(5) (a)の単鎖核酸分子と(b)の単鎖核酸分子とがリンカーによって繋がられている(1)乃至(4)のいずれか記載の核酸分子。

(6) リンカーが、核酸である(5)記載の核酸分子。

(7) (1)乃至(6)のいずれか記載の核酸分子を基板上に固定した核酸チップ。

(8) (1)乃至(6)のいずれか記載の核酸分子をプローブとして用いる核酸分子の検出方法。

(9) (1)乃至(6)のいずれか一項記載の核酸分子をプローブとして用いるミスマッチ配列の検出方法。

(10) (1)乃至(6)のいずれか一項記載の核酸分子をプライマーとして用いるミスマッチ配列の検出方法。

(11) 検出対象とする核酸分子を含むサンプルに、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含まない領域と相補的な第一の検出プローブを加え、次いで、第一の検出プローブと同一の塩基配列を含み、かつ、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的な第二の検出プローブを加え、その後、検出対象とする核酸分子と第二の検出プローブの結合、又は検出対象とする核酸分子と第一の検出プローブとの解離を指標として、核酸分子の検出を行うことを特徴とする核酸分子の検出方法。

【0009】

以下、本発明を詳細に説明する。

【0010】

本発明の核酸分子は、(a)検出対象とする核酸分子と相補的な単鎖核酸分子と、(b)(a)の単鎖核酸分子の一部分とハイブリダイズする1又は2の単鎖核酸分子とからなる部分二重鎖型核酸分子であって、当該部分二重鎖型核酸分子の単鎖構造をとっている領域が、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的であることを特徴とするものである。

【0011】

本発明において「核酸分子」とは、主としてDNAを意味するが、RNAや核酸類似分子(例えば、PNAなど)なども含む。

【0012】

「識別部位」とは、検出対象とする核酸分子と、それと類似する核酸分子との間で配列が異なっていると予想される部位をいう。遺伝的多型の存在が予想される部位は、通常識別部位となり得る。

【0013】

検出対象とする核酸分子は特に限定されないが、本発明の核酸分子は1塩基変異の識別に有効なので、1塩基変異を含む遺伝子などを検出対象とするのが好ましい。

【0014】

(b)の単鎖核酸分子は1本であってもよく、2本でもよい。1本の場合は片側が二重鎖でもう一方の側が単鎖というような構造をとり、2本の場合は両側が二重鎖で中央部分が単鎖というような構造をとる。

【0015】

本発明の核酸分子の二重鎖構造をとる領域の長さは特に限定されないが、通常10～50塩基程度であり、好ましくは10～30塩基程度である。

【0016】

本発明の核酸分子の単鎖構造をとる領域の長さは特に限定されないが、通常1～5塩基程度であり、好ましくは2～5塩基程度である。

【0017】

(a)の単鎖核酸分子と(b)の単鎖核酸分子とはリンカーによって繋がられていてもよい。リンカーは、核酸であってもよく、それ以外の物質であってもよい。

【0018】

本発明の核酸分子の標識方法は特に限定されず、例えば、(a)の単鎖核酸分子、(b)の単鎖核酸分子のいずれか一方をドナー蛍光色素（例えば、フルオレスセインイソチオシアネートなど）で標識し、他方をアクセプター蛍光色素（例えば、テトラメチルローダミン、ダブシルなど）で標識する方法などを例示できる。この標識方法では、(a)の単鎖核酸分子が(b)の単鎖核酸分子と解離すること（これは、(a)の単鎖核酸分子が検出対象とする核酸分子とハイブリダイズすることを意味する）により、蛍光が生じるので、その蛍光を指標として検出対象核酸分子の検出を行うことができる。

【0019】

本発明の核酸分子をプローブとしてDNA等の検出等を行う場合は、使用するプローブは1種類だけでもよいが、2種類以上を同時に使用してもよい。2種類以上のプローブを用いる場合としては、後述する生物の遺伝子型を決めるような場合を例示できる。

【0020】

本発明の核酸分子の構造を図1を用いて説明する。本発明の核酸分子1は、短い単鎖2と長い単鎖3とから構成され、両単鎖の長さの違いから二重鎖部分4と単鎖部分5とを持っている。長い単鎖3は、検出対象とする核酸分子6と相補的であり、また、長い単鎖3の単鎖部分5は、検出対象とする核酸分子6における識別部位7を含む領域8と相補的である。

【0021】

本発明の核酸分子がDNA等を高感度で検出できる原理を図2を用いて説明する。

【0022】

本発明の核酸分子と標的核酸分子を共存させると（図2A）、本発明の核酸分子の短鎖と標的核酸分子が交換し、本発明の核酸分子の長鎖と標的核酸分子との二重鎖構造が形成される（図2C）。この鎖交換は、図2Bに示すような遷移中間状態を経て行われる。単鎖部位が標的核酸と相補的であれば、遷移中間体の生成が促される。

【0023】

しかし、標的核酸分子にミスマッチ配列が含まれている場合には、上述したような遷移中間体形成は促されず（図2D）、従って、鎖交換も起こらない（図2E）。このような遷移中間体の形成の難易により、微細な配列の違いを識別できるようになる。

【0024】

本発明の核酸分子を基板上に固定することにより、核酸チップを作製することができる。この際、使用する基板は一般的なDNAチップなどに用いられるものでよい。固定方法も一般的なDNAチップと同様の方法でよい。なお、基板には、(a)の単鎖核酸分子の方を固定しても(b)の単鎖核酸分子を固定してもよい。

【0025】

本発明の核酸分子をプローブやプライマーとして用いることにより、核酸分子の検出方法や核酸分子中のミスマッチ配列の検出方法などにも利用することができる。

【0026】

また、本発明の核酸分子は、生物の遺伝子型の決定、即ち、ある生物の遺伝子型が野生型、ヘテロ変異型、ホモ変異型のいずれであるかを決定することにも利用できる。具体的には、野生型の遺伝子を検出する核酸分子と変異型の遺伝子を検出する核酸分子を作製し、それぞれを異なる方法で標識し（例えば、異なる蛍光色素で標識するなど）、2種類の核酸分子を被検生物由来の核酸分子と共存させることにより行う。このとき、野生型の遺伝子だけが検出されれば被検生物は野生型であり、変異型の遺伝子だけが検出されれば被検生物はホモ変異型であり、両方の遺伝子が検出されれば被検生物はヘテロ変異型であると判定できる。

【0027】

本発明の核酸分子を使わずに、図2で説明した原理を利用して、核酸分子の検出を行うことも可能である。例えば、以下のような方法が考えられる。

【0028】

検出対象とする核酸分子を含むサンプルに、当該検出対象とする核酸分子における識別

部位を含まない領域と相補的な第一の検出プローブを加える。これにより、第一の検出プローブは、検出対象とする核酸分子とハイブリダイズする(図3B)。このとき、検出対象とする核酸分子における識別部位は、単鎖状態のままである。

【0029】

次に、第一の検出プローブと同一の塩基配列を含み、かつ、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的な第二の検出プローブを加える。このとき、検出対象とする核酸分子の識別部位の配列が、第二の検出プローブの対応部位の配列と相補的であれば、図3Cに示すような遷移中間体が形成され、更に、第一の検出プローブの解離が起こる(図3D)。一方、検出対象とする核酸分子の識別部位の配列が、第二の検出プローブの対応部位の配列と相補的でない場合は、遷移中間体は形成されず、第一の検出プローブの解離も起こらない。

【0030】

従って、検出対象とする核酸分子と第二の検出プローブの結合、又は検出対象とする核酸分子と第一の検出プローブとの解離を指標として、サンプル中に検出対象とする核酸分子が存在したかどうかを高い精度で判定することができる。

【発明の効果】

【0031】

本発明の核酸分子をプローブ等として用いることにより、一塩基変異などの微細な塩基配列の違いを識別することが可能になる。また、本発明の核酸分子をプローブ等として用いた場合、温度などを厳密に制御する必要がなく、簡便な操作で核酸分子を検出することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0032】

以下、本発明を実施例により更に詳細に説明する。

【実施例1】

【0033】

1. オリゴデオキシヌクレオチド(ODN)および二重鎖配列の調製

図4に示す配列のODNはファスマック(株)より購入し、逆相クロマトグラフィーにより精製した。F1は5'末端にフルオレスセインイソチオシアネート(FITC)、D1は3'末端にダブシル(DAB)で標識されている。F1とD1は互いに相補的な塩基配列であるが、鎖長はそれぞれ19量体と14量体であり、F1はD1と二重鎖DNAを形成していても3'末端側に単鎖部分が連続して5量体分存在している。F1とD1を等モル量混合し、PBS緩衝液中($[Na^+]=150\text{ mM}$, pH 7.2)に90℃に加熱後徐冷することで部分二重鎖型プローブF1/D1を得た。

【0034】

C1はF1と相補的二重鎖を形成できる完全相補的な未標識配列である。M1、M2、M3では、それぞれ5'末端近傍、中央部、3'末端近傍の部位に一塩基変異を持ち、F1との二重鎖ではミスマッチ塩基対を形成する。これらの鎖長はそれぞれ19量体である。M4はD1と同等の配列を持ち鎖長は14量体である。

2. 部分二重鎖型プローブF1/D1を用いたミスマッチ解析

部分二重鎖型プローブF1/D1と単鎖間の鎖交換に及ぼす一塩基変異の影響を調べた。部分二重鎖型プローブF1/D1を12nMになるようにPBS緩衝液に溶解した。この溶液を20℃に保ち、単鎖としてC1、M1、M2、M3、M4をそれぞれ60nMになるように加え、鎖交換反応を開始させた。鎖交換の進行はDABにより消光されていたFITCの蛍光(励起波長:490nm、蛍光波長:520 nm)の回復により検出した。

【0035】

結果を図5に示す。完全相補配列C1の鎖交換は速やかに進行するのに対し、変異を持つ単鎖M1との鎖交換反応は緩慢であり、その効果は一塩基変異の位置や配列の部分的な欠損により大きく影響を受けることがわかる。それぞれの鎖交換速度定数を算出し相対値として表した結果を表1に示す。

【0036】

【表 1】

配列	鎖交換速度定数比
C1	1.00
M1	0.02
M2	0.06
M3	1.06
M4	0.02

完全相補鎖C1と比較した変異配列の速度定数は、M1では約1/50、M2では約1/16に鎖交換速度が低下している。つまり、単鎖部位にミスマッチ塩基対を形成させることで、検出分解能が高められることがわかる。さらに、M3ではC1と速度定数が有意に変化せず、2重鎖部位にミスマッチ塩基対を形成するプローブでは、変異の検出が不可能な場合があることが明らかである。

したがって、単鎖部位にミスマッチを形成するようにプローブを設計することで、信頼度および感度の高い検出ができる。また、M1に見られる交換速度は、M4のようにF1の単鎖部位と塩基対形成ができない配列の速度定数とほとんど等しいことから、高い分解能でミスマッチ検出ができることが示される。

【0037】

このようにODNを設計すれば(F1, D1)、鎖交換速度の差異により一塩基変異を極めて高感度で検出できることがわかった。

3. 各時間ごとの鎖交換における蛍光変化

上記1と同様に鎖交換を開始し、5分後、10分後、そして20分後の蛍光強度を求めた結果を表2に示す。

【0038】

【表 2】

配列	5 分	10 分	20 分
C1	123.7	140.9	150.1
M1	38.6	40.8	44.1
M2	47.8	53.2	61.8
M3	119.3	128.7	132.0
M4	38.7	40.5	44.1

変異配列M1は5分～20分の反応でC1と見分けられることがわかる。一方、二重鎖部位でミスマッチ塩基対を形成するM2では、C1との蛍光強度差が時間と共に減少し、判別条件が限定されることがわかる。そしてM3の判別は、いずれの時間でも不可能である。

【実施例 2】

【0039】

1. 高塩濃度における鎖交換への影響

実施例1で用いたODNによる鎖交換反応(F1, D1, C1, M1)を、PBS緩衝液(pH7.2)のナトリウムイオン濃度を150 mMから1000 mMに変更した条件でおこなった。結果を図6に示す。150mMの条件と比較して(図5参照)、1000 mMの条件では鎖交換が速やかに進行するものの、一塩基変異の認識能は保持されていた。それぞれの塩濃度で鎖交換速度定数を算出し、相対値として表した結果を表3に示す。

【0040】

【表 3】

塩濃度 - 配列		鎖交換速度定数比
150 mM	C1	1.00
150 mM	M1	0.02
1000 mM	C1	5.36
1000 mM	M1	0.08

塩濃度1000 mMの速度定数は150mMの場合と比較して、約4～5倍に鎖交換速度が加速している。このように、塩濃度の調整によってミスマッチ検出速度を向上させられることがわかった。

【実施例 3】

【0041】

1. オリゴデオキシヌクレオチド(ODN)および二重鎖配列の調製

図 7 に示す配列のT1は5' 末端にテトラメチルローダミン(TAMRA)、D1は3' 末端にダブルシル(DAB)で標識されている。T1とD1は互いに相補的な塩基配列であるが、鎖長はそれぞれ19量体と14量体であり、実施例 1 のF1の場合と同様に、T1はD1と二重鎖DNAを形成していても3' 末端側に単鎖部分が連続して5量体分存在している。T1とD1 をPBS緩衝液中 ($[Na^+] = 150 \text{ mM}$, pH 7.2) で等モル量混合し、90℃に加熱後徐冷することで部分二重鎖型プローブT1/D1を得た。

【0042】

T1と相補的二重鎖を形成できるODNの未標識配列として、C1とM1を用いている。実施例 1 の場合とは逆で、M1が完全相補的な配列となり、C1は5' 末端側の部位で、T1とミスマッチ塩基対を形成する。

2. 部分二重鎖型プローブT1/D1を用いたミスマッチ解析

部分二重鎖型プローブT1/D1と単鎖間の鎖交換に及ぼす一塩基変異の影響を調べた。部分二重鎖型プローブT1/D1を12nMになるようにPBS緩衝液に溶解した。この溶液を20℃に保ち、単鎖としてM1、C1をそれぞれ60 nM になるように加え、鎖交換反応を開始させた。鎖交換の進行はDABにより消光されていたTAMRA の蛍光(励起波長: 540nm、蛍光波長: 570 nm)の回復により検出した。

【0043】

結果を図 8 に示す。完全相補配列M1の鎖交換は速やかに進行するのに対し、一塩基変異を持つ配列C1との鎖交換反応は緩慢であった。それぞれの鎖交換速度定数を算出し相対値として表した結果を表 4 に示す。

【0044】

【表 4】

配列	鎖交換速度定数比
M1	1.00
C1	0.02

完全相補鎖M1と比較した変異配列C1の速度定数は、約1/40に鎖交換速度が低下している。

【0045】

このようにODNを設計すれば(T1, D1)、鎖交換速度の差により、特に検出の難しいGC塩基対とGT塩基対の差でも高感度・短時間で検出できることがわかった。

3. 各時間ごとの鎖交換における蛍光変化

上記 1 と同様に鎖交換を開始し、2分後、5分後、そして10分後の蛍光強度を求めた結果を表 5 に示す。

【0046】

【表 5】

配列	2 分	5 分	10 分
C1	19. 2	28. 4	42. 8
M1	126. 1	143. 4	146. 1

GC塩基対とGT塩基対の差違でも、2分および5分の反応で変異配列の検出が可能であることがわかる。

【図面の簡単な説明】

【0047】

【図1】本発明の核酸分子の構造を示す図。

【図2】本発明の核酸分子と標的核酸分子との鎖交換過程を示す図。

【図3】本発明の核酸分子を使わない検出方法の概要を示す図。

【図4】実施例1で使用したODNの塩基配列を示す図。

【図5】フルマッチ及びミスマッチODNの蛍光強度の経時的変化を示す図（蛍光色素：FITC）。

【図6】高塩濃度下におけるフルマッチ及びミスマッチODNの蛍光強度の経時的変化を示す図（蛍光色素：FITC）。

【図7】実施例3で使用したODNの塩基配列を示す図。

【図8】フルマッチ及びミスマッチODNの蛍光強度の経時的変化を示す図（蛍光色素：TAMRA）。

【符号の説明】

【0048】

- 1：本発明の核酸分子
- 2：短い単鎖
- 3：長い単鎖
- 4：二重鎖部分
- 5：単鎖部分
- 6：検出対象とする核酸分子
- 7：識別部位
- 8：識別部位を含む領域

【配列表】

SEQUENCE LISTING

<110> RIKOHGAKUSHINKOHKAI

<120> PARTIAL DOUBLE-STRANDED PROBE

<130> P03-048

<160> 10

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 14

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 1

gaaataatca atga

14

<210> 2

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 2

tcattgatta tttcccagg

19

<210> 3

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 3

cctgggaaat aatcaatga

19

<210> 4

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<400> 4

cccgggaaat aatcaatga

19

<210> 5

<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 5
cctgggaaat actcaatga 19

<210> 6
<211> 14
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 6
gaaataatca atga 14

<210> 7
<211> 14
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 7
gaaataatca atga 14

<210> 8
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 8
tcattgatta tttcccggg 19

<210> 9
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

<400> 9
cccgggaaat aatcaatga 19

<210> 10
<211> 19
<212> DNA
<213> Artificial Sequence

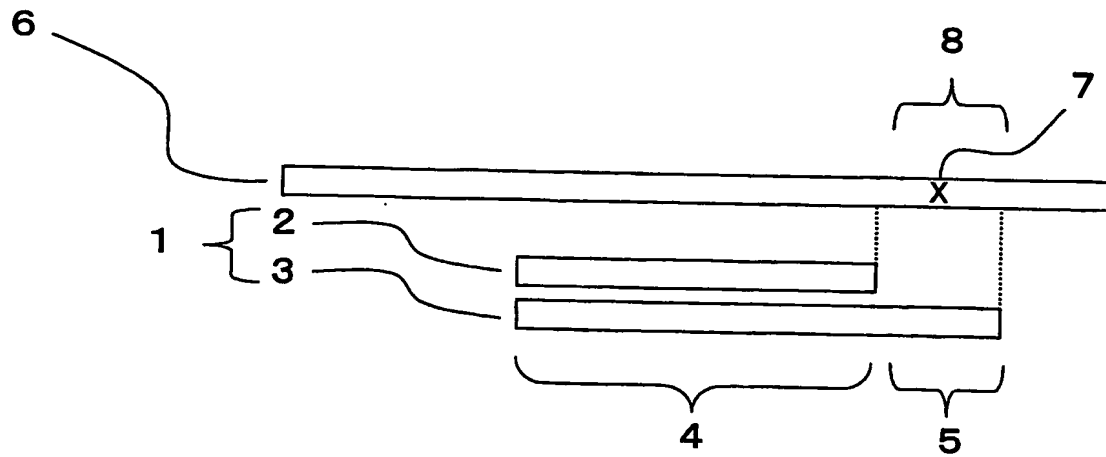
<400> 10

cctgggaaat aatcaatga

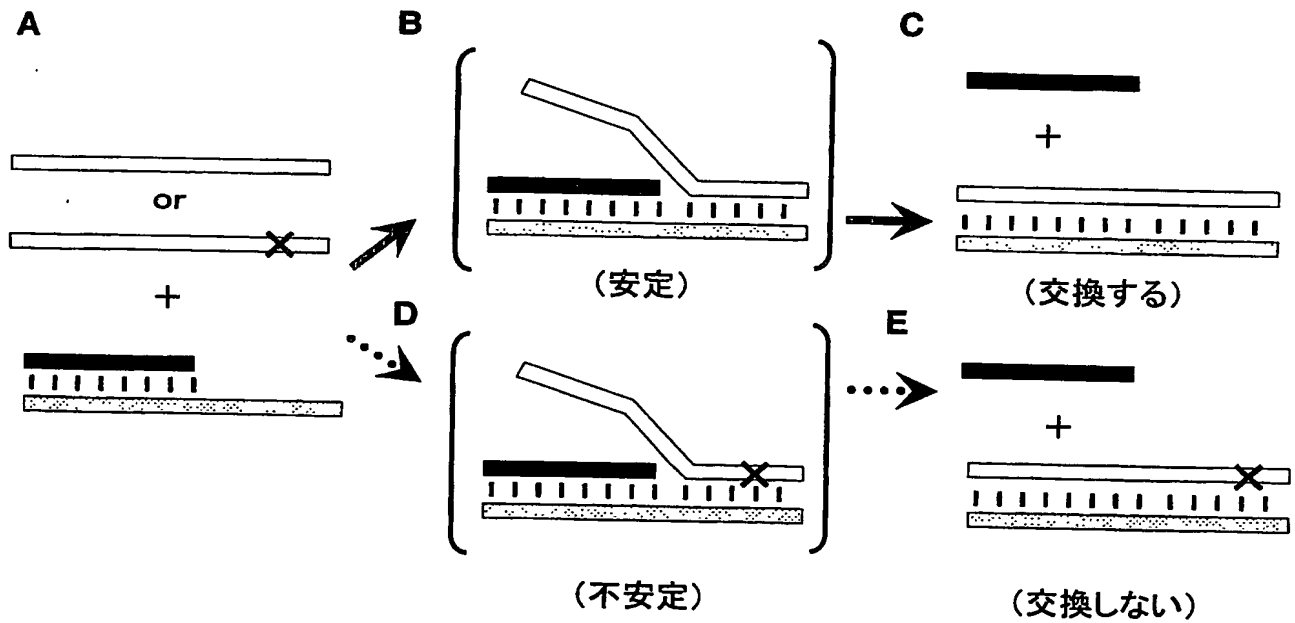
19

【書類名】 図面

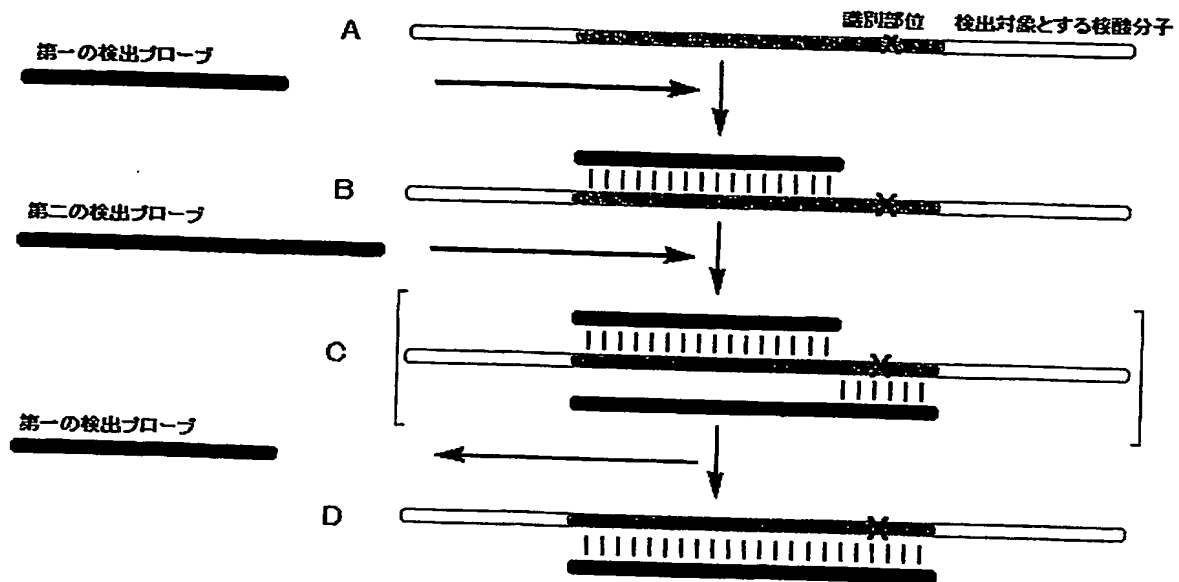
【図 1】



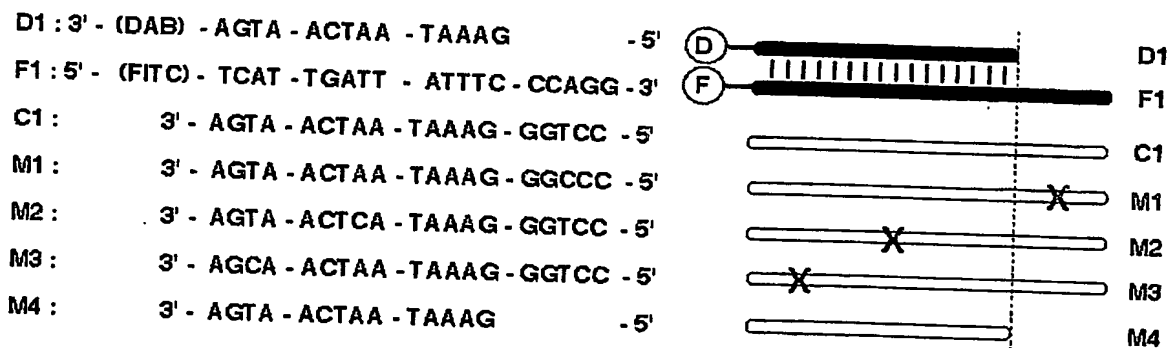
【図 2】



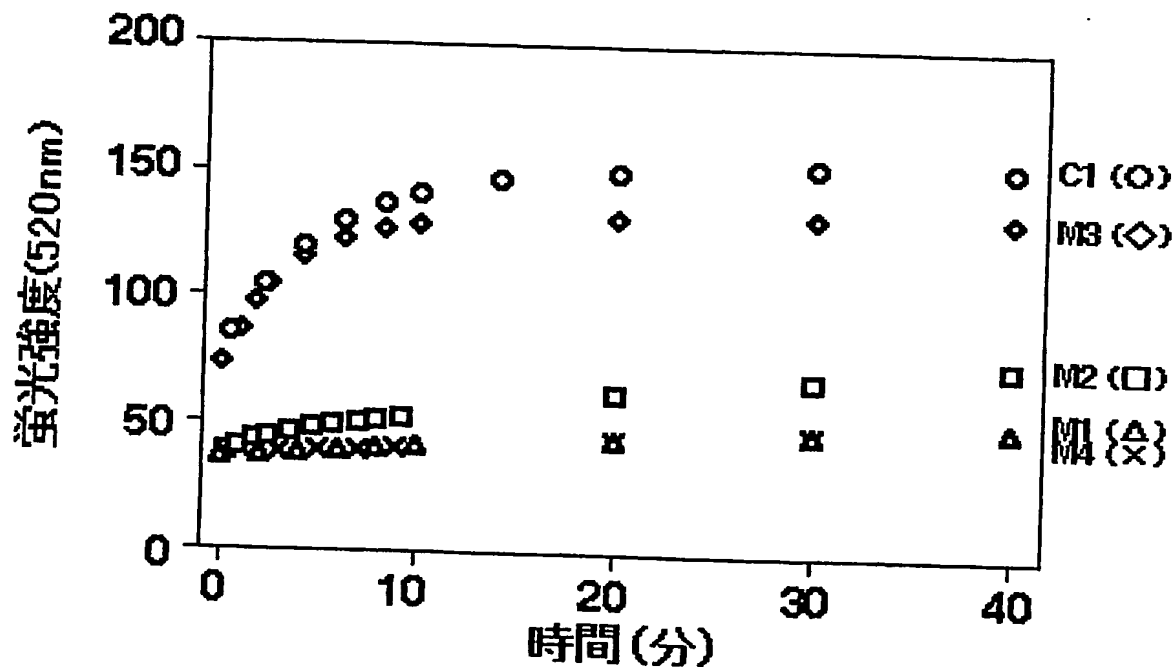
【図 3】



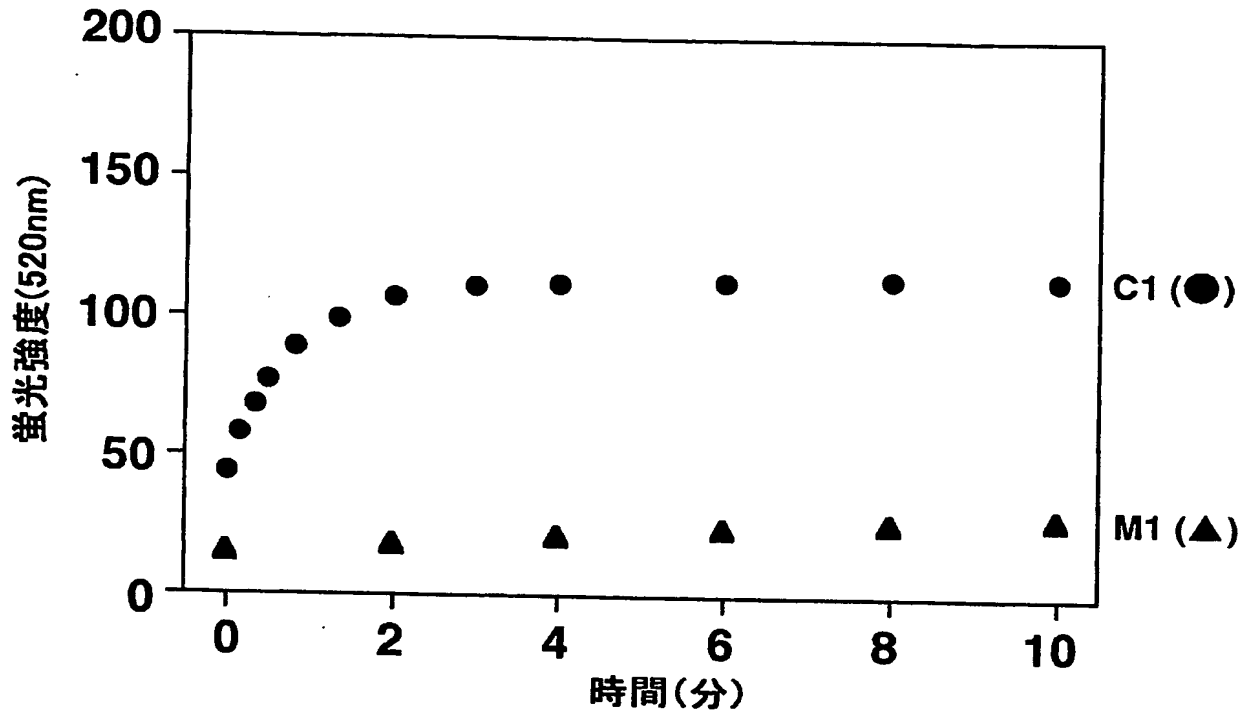
【図 4】



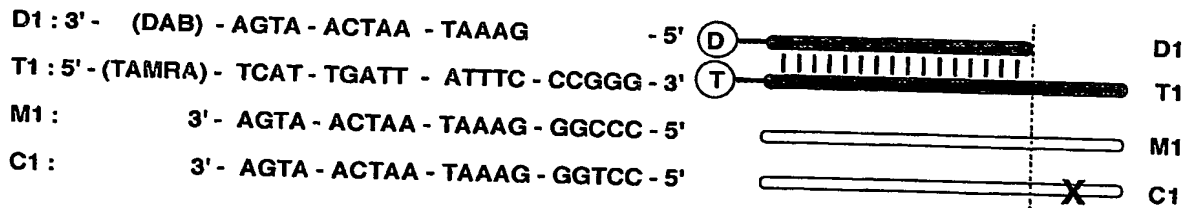
【図 5】



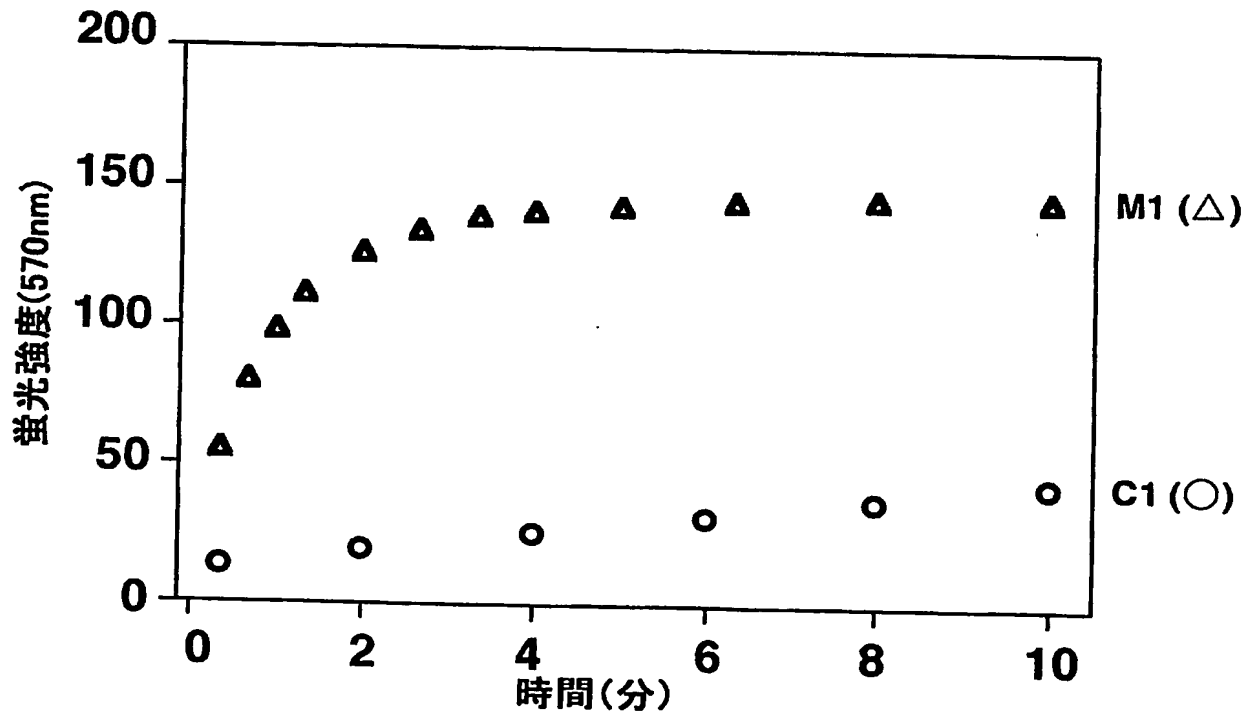
【図 6】



【図 7】



【図 8】



【書類名】要約書

【要約】

【課題】 塩基配列の微細な違いを簡便に識別可能な核酸分子を提供する。

【解決手段】 (a)検出対象とする核酸分子と相補的な単鎖核酸分子と、(b)(a)の単鎖核酸分子の一部とハイブリダイズする 1 又は 2 の単鎖核酸分子とからなる部分二重鎖型核酸分子であって、当該部分二重鎖型核酸分子の単鎖構造をとっている領域が、当該検出対象とする核酸分子における識別部位を含む領域と相補的であることを特徴とする核酸分子。

【選択図】 図 1

特願 2003-282311

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号 [899000013]

1. 変更年月日	1999年 9月17日
[変更理由]	新規登録
住 所	東京都目黒区大岡山2-12-1
氏 名	財団法人理工学振興会